不同蛋白质源饲料中添加α-酮戊二酸对杂交鲟幼鱼肝脏谷氨酰胺含量、抗氧化能力及生长激素、胰岛素样生长因子-Ⅰ基因表达的影响

王连生[1]　徐奇友[1]　陈　迪[1,2]　郑荣宁[3]

（1.中国水产科学研究院黑龙江水产研究所，哈尔滨 150070；2.上海海洋大学水产与生命学院，上海 201306；3.连云港金陵饲料有限公司，连云港 222313）

摘　要：本试验旨在研究不同蛋白质源饲料中添加α-酮戊二酸对杂交鲟（*Acipenser schrenckii*♀×*Acipenser baeri*♂）幼鱼肝脏谷氨酰胺（Gln）含量、抗氧化能力及生长激素（*GH*）、胰岛素样生长因子-Ⅰ（*IGF*-Ⅰ）基因表达的影响。分别以大豆浓缩蛋白和大豆浓缩蛋白+鱼粉为蛋白质源，设2个α-酮戊二酸（AKG）添加量（0和1%），配制4种试验饲料。选取平均体重为（7.65±0.04） g的杂交鲟幼鱼500尾，随机分为4组，每组5个重复，每个重复25尾，养殖周期为8周。结果表明：饲料中添加1% AKG显著提高肝脏Gln含量和谷氨酰氨合成酶（GS）活性（P<0.05），对肝脏碱性磷酸酶（ALP）活性无显著影响（P>0.05）。蛋白质源对肝脏Gln含量、GS活性和ALP活性无显著影响（P>0.05），且蛋白质源和AKG添加量对肝脏Gln含量、GS活性和ALP活性无显著交互作用（P>0.05）。饲料中添加1% AKG显著降低肝脏丙二醛（MDA）含量，显著提高肝脏谷胱甘肽（GSH）含量（P<0.05）。与大豆浓缩蛋白+鱼粉作为蛋白质源相比，大豆浓缩蛋白作为蛋白质源显著提高肝脏 GSH 含量（P<0.05）。蛋白质源和AKG添加量对肝脏超氧化物歧化酶（SOD）和过氧化氢酶（CAT）活性均无显著影响（P>0.05），且蛋白质源和 AKG 添加量对肝脏各抗氧化指标无显著交互作用（P>0.05）。饲料中添加1% AKG显著提高肝脏*GH*、*IGF*-Ⅰ基因的相对表达量（P<0.05）。与SPC+FM蛋白质源相比，SPC蛋白质源显著提高肝脏*IGF*-Ⅰ和*GH*基因的相对表达量（P<0.05）。蛋白质源和AKG添加量对肝脏*GH*、*IGF*-Ⅰ基因的相对表达量无显著交互作用（P>0.05）。综上所述，杂交鲟幼鱼饲料中添加1% AKG可以通过提高肝脏中GS的活性进而提高Gln的含量，通过提高肝脏中GSH的含量进而降低MDA的含量，并可提高肝脏中生长相关基因*GH*、*IGF*-Ⅰ的表达。

收稿日期：2016-05-31

基金项目：黑龙江水产研究所基本科研业务费专项资金（HSY201408）；国家公益性行业（农业）专项（201003055）

作者简介：王连生（1984-），男，内蒙古丰镇人，助理研究员，博士，研究方向为水产动物营养与饲料科学。E-mail： wangliansheng@hrfri.ac.cn

关键词：杂交鲟幼鱼；α-酮戊二酸；谷氨酰胺；抗氧化；生长激素基因；胰岛素样生长因子-Ⅰ基因
中图分类号：S963　文献标识码：A　文章编号：

谷氨酰胺（glutamine，Gln）作为一种半必需氨基酸，是鱼类肌肉和血清中含量最为丰富的氨基酸。Gln 大约占细胞外液氨基酸总量的 25%，占骨骼肌氨基酸总量的 60%以上[1]。Gln 可促进机体蛋白质沉积，在嘌呤、嘧啶、核苷酸和氨基糖合成过程中提供氮[2]。研究表明，饲料中添加 Gln 可促进建鲤(*Cyprinus carpio* var. Jian)[3]、杂交鲟（*Acipenser schrenckii*♀×*Acipenser baeri*♂）[4]、眼斑拟石首鱼（*Sciaenops ocellatus*）[5]及杂交条纹鲈(*Morone chrysops*×*Morone saxatilis*)[6]的生长。但是 Gln 稳定性差且在水中溶解度低，从而限制了 Gln 在动物营养中的应用[7]。

α-酮戊二酸(α-ketoglutarate，AKG)作为 Gln 的前体物质，是三羧酸循环的中间代谢产物，可以与氨结合生成谷氨酸和 Gln。AKG 能有效促进机体氮代谢，可以降低铵离子对机体的毒性[8]。AKG 可以激活雷帕霉素靶蛋白信号通路，进而促进肠道上皮细胞蛋白质沉积[9]。鲤鱼饲料中添加 AKG 能显著提高谷氨酰胺酶（*GS*）基因的表达量，进而提高机体 Gln 的含量[10]。本实验室前期研究了 AKG 对杂交鲟和松浦镜鲤生长、氨氮应激、肠道健康及抗氧化功能的影响，在不同饲料原料、不同饲料蛋白质水平条件下均具有促进生长的作用，在氨氮应激条件下可以通过提高热应激蛋白缓减应激作用，同时具有改善肠道形态、提高抗氧化能力的作用[11-15]。肝脏是机体氨基酸代谢的主要场所，本试验拟在不同蛋白质源饲料中添加 AKG，研究 AKG 对杂交鲟幼鱼肝脏功能的影响，并进一步研究 AKG 对肝脏中生长相关基因生长激素（*GH*）和胰岛素样生长因子-Ⅰ（*IGF-*Ⅰ）基因表达的影响，为 Gln 在杂交鲟饲料中的应用进一步提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　试验材料

杂交鲟幼鱼购自北京房山鲟鱼养殖基地。AKG 购自 Sigma-Aldrich 公司，纯度≥98.5%。

1.2　试验饲料

分别以大豆浓缩蛋白（SPC）和 SPC+鱼粉（FM，进口）为蛋白质源，并在此基础上分别添加 0 和 1%的 AKG，配制蛋白质水平均为 44%的 4 种试验饲料，试验饲料组成及营养水平见表 1。各组原料经粉碎，过 40 目筛，逐级混匀，制成粒径为 2.0 mm 的颗粒饲料，室温条件下通风干燥后，在-20 ℃冰柜存放。

1.1.3　试验分组及饲养管理

试验用杂交鲟幼鱼用食盐水（5%）消毒后暂养 2 周。挑选健康、大小均一、平均体重为（7.65±0.04） g 的试验鱼 500 尾，随机分为 4 组，每组 5 个重复，每个重复 25 鱼。养殖水环境条件为温度（21.2±1.0） ℃，溶氧浓度大于 5 mg/L，pH 7.8，自然光照。试验期间每

天投喂 3 次，投喂时间分别为 08:00、13:00 和 17:00，每次饱食投喂，投喂量约为鱼体重的 5%，每天投喂后吸取残饵和粪便，定期检测水质，每天换去水族箱内 1/3 水并注入已曝气的水，确保水质良好，养殖周期为 8 周。

表 1　试验饲料组成及营养水平（风干基础）

Table 1　Composition and nutrient levels of experimental diets （air-dry basis） %

项目 Items	试验饲料 Experimental diets			
	1	2	3	4
原料 Ingredients				
α-酮戊二酸 AKG		1.00		1.00
鱼粉 Fish meal			10.00	10.00
次粉 Wheat middling	20.00	20.00	20.00	20.00
糊精 Dextrin	10.00	10.00	10.00	10.00
大豆浓缩蛋白 SPC	56.18	56.18	46.18	46.18
鱼油 Fish oil	3.00	3.00	3.00	3.00
豆油 Soy oil	5.50	5.50	5.00	5.00
α-纤维素 α-cellulose	2.00	1.00	3.00	2.00
磷酸二氢钙 $Ca(H_2PO_4)_2$	2.00	2.00	2.00	2.00
氯化胆碱 Choline chloride	0.20	0.20	0.20	0.20
甜菜碱 Betaine	0.10	0.10	0.10	0.10
2，6-二叔丁基对甲苯酚 BHT	0.02	0.02	0.02	0.02
预混料 Premix	0.50	0.50	0.50	0.50
氯化钠 NaCl	0.50	0.50		
合计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels				
粗蛋白质 CP	44.05	44.29	44.28	44.04
粗脂肪 EE	15.97	15.43	16.44	16.33

预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kg of diets：VA 8 000 IU，VE 70 mg，硫胺素 thiamine 18 mg，VB_2 35 mg，VB_6 18 mg，泛酸 pantothenic acid 50 mg，烟酸 niacin 200 mg，生物

素 biotin 2.5 mg，VB_{12} 0.6 mg，叶酸 folic acid 6 mg，肌醇 inositol 1 000 mg，胆碱 choline 5 000 mg，VC 500 mg，VD_3 2 000 IU，VK 7 mg，Zn 65 mg，Fe 75 mg，Cu 3.5 mg，Mn 16 mg，I 0.65 mg，Co 0.1 mg，Se 0.1 mg。

1.3 样品采集与分析

养殖试验结束后，饥饿 24 h，从每个重复随机取 4 尾鱼，用麻醉剂间氨基苯甲酸乙酯甲磺酸盐（MS-222）麻醉后取其肝脏，按质量（g）与体积（mL）比为 1:9 加入预冷的生理盐水，然后用 FJ-200CL 高速组织匀浆机匀浆（15 000 r/min，3 min）稀释，在 4 ℃下以 4 000 r/min 离心 10 min，取上清液放入 1.5 mL 离心管中，保存于冰箱（-40 ℃）中，用于 Gln 含量、CS 活性、碱性磷酸酶（ALP）活性及抗氧化指标分析。采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定 Gln 含量、CS 活性、ALP 活性、还原型谷胱甘肽（GSH）含量、超氧化物歧化酶（SOD）活性、过氧化氢酶（CAT）活性及丙二醛（MDA）含量，具体方法参见试剂盒说明书。

每个重复另随机取 3 尾鱼的肝脏，包裹在锡箔纸中，迅速投入到液氮中，使其迅速冷冻，然后置于-80 ℃冰箱中储存，用于肝脏中 *GH*、*IGF*-Ⅰ基因表达量的测定。肝脏总 RNA 的提取根据总 RNA 提取试剂盒 SV total RNA Isolation System (Promega)说明书进行。cDNA 用反转录试剂盒进行反转录，步骤见 PrimeScript^{TM} RT Reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time)说明书，结束后于-20 ℃条件下保存备用。利用 Primer premier 5.0 引物设计软件，根据鲟鱼类 *GH*、*IGF*-Ⅰ mRNA 的基因序列，设计 *GH*、*IGF*-Ⅰ的引物，*IGF*-Ⅰ：5′-TCATCGCCCTGACAGTCTACAT-3′（F），5′-GGTCGCCTGCTGAAATAAAAG-3′（R）；*GH*：5′-AGATGAGCAGCGTCACTCCAGC-3′（F），5′-AGAGCCACAATACCTTCCTCCA-3′（R）；18S rRNA：5′-CCGCTTTGGTGACTCTGGAT-3′（F），5′-CTTGGATGTGGTAGCCGTTTC-3′（R）。所有引物由生工生物工程（上海）公司合成。采用 Aapplied Biosystems 7500 Real-Time PCR System 检测各组 *GH*、*IGF*-Ⅰ mRNA 的实时表达量，PCR 反应体系为 20 μL。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算各基因的相对表达量，数据取 3 次重复的平均值。

1.4 数据分析

数据采用 SPSS 19.0 软件进行数据分析，以蛋白质源和 AKG 添加水平为影响因素，采用双因素方差分析，显著性水平为 $P<0.05$，试验结果以平均值±标准差表示。

2 结 果

2.1 不同蛋白质源饲料中添加 AKG 对杂交鲟幼鱼肝脏 Gln 含量、GS 活性和 ALP 活性的影响

不同蛋白质源饲料中添加 AKG 对杂交鲟幼鱼肝脏 Gln 含量、GS 活性和 ALP 活性的影响见表 2。双因素方差分析表明：AKG 添加量显著影响肝脏 Gln 含量和 GS 活性（$P<0.05$），饲料中添加 1% AKG 显著提高肝脏 Gln 含量和 GS 活性（$P<0.05$），对 ALP 活性无显著影响（$P>0.05$）。蛋白质源对肝脏 Gln 含量、GS 活性和 ALP 活性无显著影响（$P>0.05$），蛋白质源和 AKG 添加量对肝脏 Gln 含量、GS 活性和 ALP 活性无显著交互作用（$P>0.05$）。

表 2　不同蛋白质源饲料中添加 AKG 对杂交鲟幼鱼肝脏 Gln 含量、GS 活性和 ALP 活性的影响

Table 2　Effects of AKG supplementation on liver Gln content, GS activity and ALP activity of juvenile hybrid sturgeon fed different protein source diets

组别 Groups	谷氨酰胺 Gln /(mmol/g prot)	谷氨酰胺合成酶 GS /(U/mg prot)	碱性磷酸酶 ALP /(U/mg prot)
1	5.61±0.49^{a}	0.24±0.02^{bc}	7.24±1.02
2	5.95±0.30^{a}	0.26±0.01^{b}	8.36±0.76
3	3.84±0.39^{b}	0.21±0.01^{c}	6.47±0.53
4	4.48±0.33^{b}	0.31±0.01^{a}	7.72±0.65
双因素方差分析 *P* 值 *P*-value of two-way ANOVA			
蛋白质源 Protein source	0.456	0.403	0.665
AKG 添加量 AKG supplemental level	0.036	0.001	0.792
交互作用 Interaction effect	0.697	0.408	0.412

2.2　不同蛋白质源饲料中添加 AKG 对杂交鲟幼鱼肝脏抗氧化指标的影响

不同蛋白质源饲料中添加 AKG 对杂交鲟幼鱼肝脏抗氧化指标的影响见表 3。双因素方差分析表明：AKG 添加量显著影响肝脏 MDA、GSH 含量（$P<0.05$），饲料中添加 1% AKG 显著降低肝脏 MDA 含量，显著提高肝脏 GSH 含量（$P<0.05$）。蛋白质源显著影响肝脏 GSH 含量（$P<0.05$），与 SPC+FM 作为蛋白质源相比，SPC 作为蛋白质源显著提高肝脏 GSH 含量（$P<0.05$）。蛋白质源和 AKG 添加量对肝脏 SOD 和 CAT 活性均无显著影响（$P>0.05$），且蛋白质源和 AKG 添加量对肝脏各抗氧化指标无显著交互作用（$P>0.05$）。

表 3　不同蛋白质源饲料中添加 AKG 对杂交鲟幼鱼肝脏抗氧化指标的影响

Table 3　Effects of AKG supplementation on liver antioxidant indices of juvenile hybrid sturgeon fed different protein source diets

组别 Groups	超氧化物歧化酶 SOD /(U/mg prot)	过氧化氢酶 CAT /(U/mg prot)	丙二醛 MDA /(nmol/mg prot)	还原型谷胱甘肽 GSH /(μmol/g prot)
1	146.80±8.81	149.61±9.01	9.43±1.03[a]	112.39±5.51[b]
2	150.45±5.35	150.18±4.38	5.12±0.96[b]	136.13±4.34[a]
3	160.70±4.14	140.05±3.93	9.75±1.07[a]	79.63±5.10[c]
4	173.70±6.90	165.63±4.58	5.32±0.55[b]	103.52±5.98[b]
双因素方差分析 *P* 值 *P*-value of two-way ANOVA				
蛋白质源 Protein source	0.191	0.829	0.532	0.001
AKG 添加量 AKG supplemental level	0.551	0.336	0.001	0.001
交互作用 Interaction effect	0.737	0.345	0.785	0.991

2.3 不同蛋白质源饲料中添加 AKG 对杂交鲟幼鱼肝脏 *IGF-*Ⅰ、*GH* 基因表达的影响

各组杂交鲟幼鱼肝脏 *IGF-*Ⅰ、*GH* 基因的相对表达量分别见表 4。双因素方差分析表明：AKG 添加量显著影响肝脏 *IGF-*Ⅰ、*GH* 基因的相对表达量（$P<0.05$），饲料中添加 1% AKG 显著提高肝脏 *IGF-*Ⅰ、*GH* 基因的相对表达量（$P<0.05$）。蛋白质源显著影响肝脏 *IGF-*Ⅰ、*GH* 基因的相对表达量（$P<0.05$），与 SPC+FM 蛋白质源相比，SPC 蛋白质源显著提高肝脏 *IGF-*Ⅰ和 *GH* 基因的相对表达量（$P<0.05$）。蛋白质源和 AKG 添加量对肝脏 *IGF-*Ⅰ、*GH* 基因的相对表达量无显著交互作用（$P>0.05$）。

表 4 不同蛋白质源饲料中添加 AKG 对杂交鲟幼鱼肝脏 *IGF-*Ⅰ、*GH* 基因相对表达量的影响

Table 4 Effects of AKG supplementation on the relative expression levels of liver *IGF-*Ⅰ and *GH* genes of juvenile hybrid sturgeon fed different protein source diets

组别 Groups	胰岛素样生长因子-Ⅰ *IGF-*Ⅰ	生长激素 *GH*
1	1.57±0.30[b]	4.71±0.56[a]
2	3.35±0.42[a]	5.92±0.37[a]
3	0.23±0.05[b]	0.65±0.05[a]
4	1.29±0.36[b]	2.86±0.21[ab]
双因素方差分析 *P* 值 *P*-value of two-way ANOVA		
蛋白质源 Protein source	0.045	0.034

AKG 添加量 AKG supplemental level	0.003	0.009
交互作用 Interaction effect	0.418	0.423

3 讨 论

3.1 不同蛋白质源饲料中添加 AKG 对杂交鲟幼鱼肝脏 Gln 含量、GS 活性和 ALP 活性的影响

肝脏氨基酸代谢很旺盛，代谢过程中会产生对机体有害的氨，在肝脏合成尿素使氨分解。AKG 作为三羧酸循环的中间代谢产物，在谷氨酸脱氢酶作用下生产谷氨酸，进一步通过 GS 的氨化作用形成 Gln，并可通过如下关系式表示：AKG+铵根离子（NH_4^+）+烟酰胺腺嘌呤二核苷酸还原态（NADH）→谷氨酸+烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化态（NAD^+）；谷氨酸+NH_4^+→谷氨酰胺+二磷酸腺苷（ADP）+磷（Pi）[16]。GS 是上述反应的关键酶，在不同物种及组织中均有分布，催化 AKG 转换为 Gln[17]。*GS* 基因在鲤鱼肝脏中的相对表达量低于肠道、脑及眼，但显著高于肾脏、脾脏、鳃及肌肉，表明 AKG 在肝脏代谢比较活跃，且饲料添加 AKG 在能够提高肝脏 Gln 含量、GS 活性以及 *GS* 基因的表达[10]，这与本试验的结果是一致。在氨氮应激条件下，饲料中添加 AKG 能显著降低杂交鲟血氨水平，同时提高肝脏 Gln 含量和 GS 活性[12]。在本试验条件下，饲料中添加 1% AKG 能显著提高杂交鲟肝脏 Gln 含量和 GS 活性，这与对肠道的作用结果是一致[11]，表明在鱼类饲料中添加 AKG 能有效转换为 Gln。

3.2 不同蛋白质源饲料中添加 AKG 对杂交鲟幼鱼肝脏抗氧化能力的影响

机体抗氧化系统由抗氧化酶系统和非酶抗氧化系统组成。抗氧化酶系统主要包括 SOD、谷胱甘肽过氧化物还原酶（GSH-Px）、CAT 等，非酶抗氧化系统主要包括 GSH、维生素 E、维生素 C 等[18]。动物组织里的 MDA 能使核酸、蛋白质和脑磷脂发生交联而丧失活性。因此，MDA 含量的测定对机体脂质氧化程度有很好的指示作用，而且可以间接地反映出机体细胞组织受损伤程度[19]。GSH 主要起到维持机体氧化平衡的作用，是抵抗活性氧损害的主要物质，能够综合反映组织细胞抗氧化应激能力及受氧化损伤程度[20]。AKG 作为机体内重要的活性物质，除了参与三羧酸循环外，还参与机体内多种生理生化过程。AKG 作为一种抗氧化剂，在机体活性氧自由基清除方面发挥重要作用[21]。体外试验研究表明，AKG 可以抑制过氧化氢对人红细胞或神经元诱导的氧化应激[22-23]。在氨氮应激条件下，饲料中添加 AKG 能显著提高杂交鲟机体 SOD、GSH-Px、CAT 活性，且降低 MDA 含量[12]。对大鼠的研究同样表明 AKG 能提高机体 SOD 和 CAT 的活性，其主要是原因由于 AKG 促进机体脂

肪代谢，抑制氧自由基的产生[8]，这与本试验研究结果一致。此外，本试验中，饲料中添加1% AKG 可提高杂交鲟肝脏中 Gln 的含量，而 Gln 可以显著提高杂交鲟的抗氧化酶活性[24]。

3.3　不同蛋白质源饲料中添加 AKG 对杂交鲟幼鱼肝脏 *IGF*-Ⅰ和 *GH* 基因表达的影响

GH 对促进动物的生长发育起决定性的作用。GH 是通过由垂体分泌的生长因子刺激合成并释放出 IGF-Ⅰ作用于靶细胞进而促进机体的生长[25]。IGF-Ⅰ主要由生长因子作用于肝脏，在肝脏的循环代谢中产生的，在机体的生长发育、免疫功能、骨骼增长以及繁殖方面都有积极的促进作用。仔猪血液中 IGF-Ⅰ的水平和体重的增长呈正相关趋势[26-27]。有研究表明，AKG 摄入到人类体内明显地提高了血浆中一些激素的水平，例如胰岛素、GH 和 IGF-Ⅰ等[28]。断奶仔猪饲粮中添加 AKG 能有效改善脂多糖对血清中 IGF-Ⅰ水平产生的负面影响[29]。这些研究结果都表明 IGF-Ⅰ在机体的生长方面起着积极的促进作用。另有研究表明，IGF-Ⅰ与 GH 对生长的促进功能具有协同作用[30]。本试验研究表明，1% AKG 的添加显著提高了肝脏中 *IGF*-Ⅰ和 *GH* 基因的相对表达量，进而促进机体的生长。

4　结　论

杂交鲟幼鱼饲料中添加 1% AKG 可以通过提高肝脏中 GS 的活性进而提高 Gln 的含量，通过提高肝脏中 GSH 的含量进而降低 MDA 的含量，并可提高肝脏中生长相关基因 *GH*、*IGF*-Ⅰ的表达。

参考文献：

[1] NEU J,SHENOY V,CHAKRABARTI R.Glutamine nutrition and metabolism:where do we go from here?[J].The FASEB Journal,1996,10(8):829–837.

[2] WU G Y,BAZER F W,DAVIS T A,et al.Important roles for the arginine family of amino acids in swine nutrition and production[J].Livestock Science,2007,112(1/2):8–22.

[3] LIN Y,XIAO Q Z.Dietary glutamine supplementation improves structure and function of intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian)[J].Aquaculture,2006,256(1/2/3/4):389–394.

[4] XU Q Y,ZHU Q,XU H,et al.Dietary glutamine supplementation improves growth performance and intestinal digestion/absorption ability in young hybrid sturgeon (*Acipenser schrenckii*♀×*Huso dauricus*♂)[J].Journal of Applied Ichthyology,2011,27(2):721–726.

[5] CHENG Z Y,BUENTELLO J A,GATLIN Ⅲ D M.Effects of dietary arginine and glutamine on growth performance,immune responses and intestinal structure of red drum,*Sciaenops ocellatus*[J].Aquaculture,2011,319(1/2):247–252.

[6] CHENG Z Y,GATLIN Ⅲ D M,BUENTELLO A.Dietary supplementation of arginine and/or glutamine influences growth performance,immune responses and intestinal morphology of hybrid striped bass (*Morone chrysops*×*Morone saxatilis*)[J].Aquaculture,2012,362–363:39–43.

[7] AUSSEL C,COUDRAY-LUCAS C,LASNIER E,et al. α -ketoglutarate uptake in human fibroblasts[J].Cell Biology International,1996,20(5):359–363.

[8] VELVIZHI S,DAKSHAYANI K B,SUBRAMANIAN P.Effects of α-ketoglutarate on antioxidants and lipid peroxidation products in rats treated with ammonium acetate[J].Nutrition,2002,18(9):747–750.

[9] YAO K,YIN Y L,LI X L,et al.Alpha-ketoglutarate inhibits glutamine degradation and enhances protein synthesis in intestinal porcine epithelial cells[J].Amino Acids,2012,42(6):2491–2500.

[10] DONG X L,WEI Y Y,YU J,et al.Glutamine precursor supplementation increases glutamine synthetase gene expression in intestine of common carp (*Cyprinus carpio*)[J].AquacultureResearch,2014,45(9):1559–1566.

[11] WANG L S,XU Q Y,WANG C A,et al.Effects of dietary α-ketoglutarate supplementation on the growth performance,glutamine synthesis and amino acid concentrations of juvenile hybrid sturgeon *Acipenser schrenckii* ♀×*Acipenser baerii* ♂ fed high levels of soy protein concentrate[J].Animal Feed Science and Technology,2016,211:199–207.

[12] WANG L S,XU Q Y,WANG C A,et al.Effects of dietary α-ketoglutarate supplementation on the antioxidant defense system and *HSP* 70 and *HSP* 90 gene expression of hybrid sturgeon *Acipenser schrenckii* ♀×*A. baerii* ♂ exposed to ammonia-N stress[J].Aquaculture Research,2016,doi:10.1111/are.13063.

[13] 宋芳杰,王连生,徐奇友.谷氨酰胺及其前体物对松浦镜鲤组织抗氧化能力及血清生化指标的影响[J].动物营养学报,2016,28(2):627–634.

[14] 魏玉强,徐奇友,位莹莹,等.不同蛋白源饲料中添加 α-酮戊二酸对松浦镜鲤肌肉成分、血清氨基酸和生化指标的影响[J].东北农业大学学报,2015,46(1):94–100.

[15] 陈迪,王连生,徐奇友.α-酮戊二酸对杂交鲟肠道形态、消化酶活力和抗氧化能力的影响[J].大连海洋大学学报,2015,30(4):363–368.

[16] HAGHIGHAT N,MCCANDLESS D W.Effect of ammonium chloride on energy metabolism of astrocytes and C6-glioma cells *in vitro*[J].Metabolic Brain Disease,1997,12:287–298.

[17] WALSH P J,MAYER G D,MEDINA M,et al.A second glutamine synthetase gene with

expression in the gills of the Gulf toadfish (*Opsanus beta*)[J].Journal of Experimental Biology,2003,206(9):1523–1533.

[18] 赵晶,康世良.健康仔猪口服亚硒酸钠后血液硒浓度与抗氧化系统动态变化规律的研究[J].畜牧兽医学报,2003,34(6):554–557.

[19] 李源,温安祥,骆美琳.谷氨酰胺促泥鳅生长机理的初步研究[J].饲料工业,2014,35(2):37–43.

[20] 齐素萍,宫春凤,马哲,等.微波对急性胰腺炎大鼠氧自由基代谢功能的影响[J].中华物理医学与康复杂志,2004,26(2):77–80.

[21] MAILLOUX R J,SINGH R,BREWER G,et al.α-ketoglutarate dehydrogenase and glutamate dehydrogenase work in tandem to modulate the antioxidant α-ketoglutarate during oxidative stress in *Pseudomonas fluorescens*[J].Journal of Bacteriology,2009,191(12):3804–3810.

[22] DESAGHER S,GLOWINSKI J,PRÉMONT J.Pyruvate protects neurons against hydrogen peroxide-induced toxicity[J].Journal of Neuroscience,1997,17(23):9060–9067.

[23] SOKOLOWSKA M,OLESZEK A,WŁODEK L.Protective effect of alpha-keto acids on the oxidative hemolysis[J].Polish Journal of Pharmacology,1999,51(5):429–434.

[24] ZHU Q,XU Q Y,XU H,et al.Dietary glutamine supplementation improves tissue antioxidant status and serum non-specific immunity of juvenile Hybrid sturgeon (*Acipenser schrenckii* ♀ × *Huso dauricus* ♂)[J].Journal of Applied Ichthyology,2011,27(2):715–720.

[25] 姚玉妮.牦牛 *IGF*-Ⅰ基因及 *IGF*-Ⅰ*R* 基因多态性与生长发育性状关系的研究[D].硕士学位论文.兰州:甘肃农业大学,2008.

[26] OWENS P C,GATFORD K L,WALTON P E,et al.The relationship between endogenous insulin-like growth factors and growth in pigs[J].Journal of Animal Science,1999,77(8):2098–2103.

[27] LI J Q,CHEN Z M,LIU D W,et al.Genetic effects of *IGF-1* gene on the performance in Landrace × Lantang pig resource population[J].Acta Genetica Sinica,2003,30(9):835–839.

[28] MOUKARZEL A A,RICOUR C.Growth retardation in children receiving long-term total parenteral nutrition:effects of ornithine alpha-ketoglutarate[J].The American Journal of Clinical Nutrition,1994,60(3):408–413.

[29] 刘坚.α-酮戊二酸对脂多糖刺激仔猪生长性能和肠道结构与功能的影响及机理[D].武汉:武汉工业学院,2009.

[30] SIROTKIN A V,FLORKOVICOVÁ I,MAKAREVICH A V,et al.Oxytocin mediates some effects of insulin-like growth factor-Ⅰ on porcine ovarian follicles[J].Journal of Reproduction and Development,2003,49(2):141–149.

Effects of Dietary α-Ketoglutarate Supplementation on Liver Glutamine Content, Antioxidant Capacity and the Expression of Growth Hormone and Insulin-Like Growth Factor Ⅰ Genes of Juvenile Hybrid Sturgeon Fed Different Protein Source Diets

WANG Liansheng[1] XU Qiyou[1] CHEN Di[1,2] ZHENG Rongning[3]

（1. *Heilongjiang River Fisheries Research Institute*, *Chinese Academy of Fishery Sciences*, *Harbin* 150070, *China*; 2. *College of Fisheries and Life Science*, *Shanghai Ocean University*, *Shanghai* 201306, *China*; 3. *Lianyungang Jinling* Feed Co., Ltd., *Lianyungang* 222313, *China*)

Abstract: The aim of this experiment was to study the effects of α-ketoglutarate (AKG) supplementation on liver glutamine （Gln） content, antioxidant capacity and the expression of growth hormone and insulin-like growth factor Ⅰ genes of juvenile hybrid sturgeon fed different protein source diets. Four experimental diets were formulated using soybean protein concentrate (SPC) or SPC+fish meal (FM) as protein source and with 0 or 1% AKG. A total of 500 juvenile hybird sturgeon with an average initial body weight of (7.65±0.04) g were randomly divided into 4 groups with 5 replicates per group and 25 fish per replicate. The experiment lasted for 8 weeks. The results showed that the supplementation of 1% AKG significantly increased the liver Gln content and :glutamine synthetase（GS） activity (P<0.05), but had no significant effect on liver alkaline phosphatase （ALP） activity (P>0.05). Protein source had no significant effects on liver Gln content, GS activity and ALP activity (P>0.05), and the protein source and AKG supplemental level had no significant interaction effects on liver Gln content, GS activity and ALP activity (P>0.05). The supplementation of 1% AKG significantly decreased the content of liver malondialdehyde （MDA）, and increased the content of liver glutathione （GSH） (P<0.05). Compared with the SPC+FM, SPC as the protein source significantly increased the content of liver GSH (P<0.05). Protein source and AKG supplemental level had no significant effects on liver superoxide dismutase（SOD） and catalase（CAT） activities (P>0.05), and protein source and AKG supplemental level had no significant interaction effects on all liver antioxidant indices (P>0.05). The supplementation of 1% AKG significantly increased the relative expression levels of liver *IGF*-Ⅰ and *GH* genes (P<0.05). Compared with the SPC+FM, SPC as the protein source significantly increased the relative expression levels of liver *IGF*-Ⅰ and *GH* genes (P<0.05). protein source and AKG supplemental level had no significant interaction effects on the relative expression levels of liver *IGF*-Ⅰ and *GH* genes (P>0.05). In conclusion, the supplementation of 1% AKG in juvenile hybrid sturgeon diet increase the content of Gln by increasing the GS activity, reduce the content of MDA by increasing the content of GSH, and can improve the liver growth related gene *IGF*-I and *GH* expression.

Keywords: juvenile hybrid sturgeon; α-ketoglutarate; glutamine; antioxidation; *GH* gene; *IGF*-Ⅰ gene

Author, WANG Liansheng, assistant professor, E-mail： wangliansheng@hrfri.ac.cn (责任编辑 菅景颖)